

Agarelektrophoretische Studien
zur Charakterisierung der Serumproteine
von Hammel, Rind, Pferd und Schwein
im Vergleich zu einem Humanserum

von
Güldenfey E. M. Potzel
aus Karlsruhe/Baden

1965

Digitized by the Internet Archive
in 2026



Aus der Medizinischen Klinik der Universität Erlangen-Nürnberg

Direktor: Prof. Dr. med. N. HENNING

Agarelektrophoretische Studien zur Charakterisierung
der Serumproteine von Hammel, Rind, Pferd und Schwein
im Vergleich zu einem Humanserum

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
der
FRIEDRICH-ALEXANDER-UNIVERSITÄT
zu
E R L A N G E N - N Ü R N B E R G

Vorgelegt von:
Güldenfey E.M. Potzel
geb. Lange-Hermstadt

REFERENT : Prof. Dr. N. HENNING

DEKAN : Prof. Dr. G. Steinhardt

Tag der mündlichen Prüfung : 24. IX. 65

Inhaltsübersicht

A) Einleitung

B) Hauptteil

I) Untersuchungsgut und Versuchsanordnung

1. Agarelektrophorese
2. Immunoelektrophorese
3. Färbemethoden

II) Ergebnisse

Agarelektrophoretische Ergebnisse von Färbe-
und Fermentreaktion

1. Hammel
2. Rind
3. Pferd
4. Schwein
5. Mensch

III) Diskussion

C) Zusammenfassung

D) Literaturnachweis

A) Einleitung

Studien zur Aufklärung der Proteinstrukturen normaler Tierseren liegen in der einschlägigen Literatur bislang nur vereinzelt vor (1, 2, 4, 5, 6, 7, 13, 14, 15, 16, 18, 20, 22, 24, 25). Die Kenntnis der physiologischen Protein- und Fermentmuster im Bereich der Zoologie gewinnt jedoch auch für Klinik und Grundlagenforschung an Bedeutung, zumal Kleintiere im Rahmen des Tierexperiments bei solchen Fragestellungen eine nicht unbedeutende Rolle spielen. Wesentlich erscheint ob Veränderungen tierischer Serumeiweißkörper, d. h. deren qualitative und quantitative Konstellationen ohne weiteres auf die Humanpathologie übertragen werden dürfen.

Im nachfolgenden sollen im Vergleich zu einem menschlichen Serum zunächst die Normalseren von vier verschiedenen Tierarten agaroselektrophoretisch analysiert und durch zusätzliche Farb- und Fermentnachweismethoden charakterisiert werden.

B) Hauptteil

I) Untersuchungsgut und Versuchsanordnung

Es wurden die Seren von Hammel, Rind, Pferd und Schwein im Vergleich zum Serum eines gesunden Menschen agaroelektrophoretisch getrennt und anschließend auf ihre Färbbarkeit mit Amidoschwarz 10 B (Darstellung der Proteine), Schiff'schem Reagens (Darstellung der Glykoproteide), Sudanschwarz B (Darstellung der Lipoproteide), Alizarin-S-Blau (Nachweis von Kupfer), ferner auf ihren Anteil an esteraseaktiven, LDH-aktiven, peroxydase, oxydase, amylase und alkalischer Phosphatase-aktiven Komponenten geprüft. Schließlich wurde jedes Tierserum gegen ein spezifisches Antiserum immuno-elektrophoretisch analysiert und differenziert, wobei lediglich die Proteinfärbung ergänzend vorgenommen wurde. Andere Farbreaktionen kamen nicht zur Anwendung.

1. Agarelektrophorese

nach Grabar und Williams in der Modifikation der Objektträgermethode von J. J. Scheidegger. (10, 12, 17, 29)

Herstellung des Agars: Zur Herstellung des Agars wurden 30 g Agar-Agar (Difco-Agar) mit 700 ml. aqua dest. zum Quellen gebracht; sodann im kochenden Wasserbad verflüssigt, nach Erkalten in kleine Würfel geschnitten und mit aqua dest. mehrmals gewaschen. Nach Feststellen des Prozentgehaltes an Agar wurde der Agar wieder verflüssigt, mit heißem aqua dest. auf eine Konzentration von zwei Prozent aufgefüllt und mit heißer Pufferlösung (Veronalpuffer nach Michaelis pH 8,6, Ionenstärke $\mu = 0,05$) zu gleichen Teilen gemischt. Der so zubereitete Agar wurde in flüssigem Zustand durch einen Büchnertrichter genutscht, mit einigen Tropfen Merfen (Merfen-Konzentrat Zyma-Blaes, München) versetzt und im Erlenmeyerkolben aufbewahrt.

Versuchsmethode

Ein fettfreier Objektträger wird mit 3 ml heißem Elektrophoreseagar beschickt. Nach dem Erkalten wird in der Mitte der Platte die 2 x 10 mm messende Auftragsstelle ausgestanzt und mit einem Serum-gemisch in folgender Verdünnung angefüllt: für Tierseren: Serum 0,1 ml, Aqua dest. 0,05 ml, Agar 0,15 ml. Für Humanserum: Serum 0,2 ml, Aqua dest. 0,2 ml, Agar 0,4 ml. Die Startstelle wird mit blankem Agar bedeckt. Kleine 6 cm lange Papiere (Whatmann Nr. 1) werden in doppelter Lage mit Michaelispuffer getränkt und an beiden Enden an die Objektträger angelegt. Im elektrischen Gleichstromfeld (90 Volt) beträgt die durchschnittliche Wanderungsgeschwindigkeit bei 10 Objektträgern ca. 120 Minuten. Nach Beendigung der Trennung werden die Platten je nach beabsichtigter Färbung oder Ferment-Nachweisreaktion unterschiedlich weiterbehandelt.

2. Immunoelektrophorese

(8, 10, 29)

Die Trennung der Serumeiweißkörper erfolgt wie beim einfachen Agarelektrophoresevorgang. Nach Abschluß der Elektrophorese wird in einen parallel zur Trennrichtung vorbereitenden Längskanal ein spezifisches Immuns serum ⁺) eingegeben, welches nach Diffusion in den Agar mit den ebenfalls diffundierten Eiweißkörpern des getrennten Serums an den Berührungsstellen dem einzelnen Serum entsprechende Präzipitate bildet. Diese kommen in Form von halbmondförmigen Linien oder Bogen zur Darstellung. Sie sind unlöslich und charakteristisch in Position und Gestalt.

3. Färbemethoden

Proteinfärbung mit Amidoschwarz 10 B (3, 25, 27)

1 g Amidoschwarz 10 B wird in 1 Liter eines Gemisches von Acetatspuffer und Glycerin gelöst.

⁺) Antiseren von den Behringwerken Marburg-Lahn

Herstellung des Acetatpuffers:

500 ml Essigsäure (60 ml auf 1 l Aqua dest.) werden mit 500 ml einer Natrium-Acetatlösung (13,6 g Natrium-Acetat + 3 H₂O auf 1 l Aqua dest.) gemischt.

850 ml dieses Puffers werden mit 150 ml Glycerin versetzt. Die Agarplatten die vorher in 2%iger Essigsäurelösung präzipitiert und unter Filtrierpapier bei 37° C getrocknet wurden, werden 3 Stunden lang in Färbelösung belassen. Entfärben in 2 %iger Essigsäurelösung (mit Glycerin versetzt) einige Stunden lang unter mehrmaligem Wechseln des Entfärbers.

Kohlehydratfärbung mit Schiff'schem Regaens (3, 11, 25)

Lösung I: 10 %iges Hydroxylaminchlorhydrat in Natriumacetatpuffer ph = 4,7, μ = 0,1.

Der Natriumacetatpuffer wird wie folgt zusammengestellt:

- a) 12 ml Eisessig ad 1000 ml einer 50 %igen Alkohollösung (500 ml 96 % Äthylalkohol ad 1000 ml Aqua dest.)
- b) Natriumacetat + 3 H₂O 27,2 g ad 1000 ml 50 %igen Äthylalkohol

Von a) 455,0 ml
Von b) 545,0 ml mischen

dies ist der gewünschte Natriumacetatpuffer ph = 4,7, μ = 0,1. 20 g Hydroxylaminchlorhydrat und 200 ml obigen Puffers ergeben die Lösung I.

Lösung II: 1 %ige Perjodsäure gelöst in einer 0,2 M Natriumacetatlösung. Es werden 27,2 g Natriumacetat in 1000 ml Aqua dest. gelöst - von dieser 0,2 molaren Lösung 200 ml mit 2 g Acidum periodicum cryst. gemischt.

Lösung III: Schiff'sches Reagens: 1,5 g Fuchsin in 500 ml kochendem Aqua dest. lösen und auf 55°C abkühlen lassen. Filtrieren. Weiter abkühlen lassen auf 40°C, dem Filtrat 25 ml einer 2 N Salzsäure und 3,75 g Natriumpyrosulfit hinzugeben. (2 N Salzsäure = 100 ml Aqua dest. dazu 7,3 ml Acidum hydrochloricum) Schütteln und die Lösung in einem Rundkolben auf 500 ml mit Aqua dest. auffüllen. Für die Dauer von 16 Stunden

in den Eisschrank stellen. Danach 2 - 3 Kohle-Compretten hinzugeben, 40 - 60 Sekunden belassen und unverzüglich filtrieren. Aufbewahren der Lösung bei 4°C. Unmittelbar vor Gebrauch wird das Schiff'sche Reagens 1 : 1 mit Aqua dest. verdünnt.

Lösung IV: 50 ml einer 10 %igen Natriummetabisulfitlösung (10 g Na-pyrosulfurosum ad 100 ml Aqua dest.) zusammen mit 50 ml einer 2 N Salzsäure auf 1000 ml Aqua dest. auffüllen.

Lösung V: Lösung IV zu 20 % mit Glycerin versetzen (40 ml Glycerin ad 200 ml der Lösung IV)

Arbeitsgang:

Nach Abschluß des Trennvorgangs kommen die Elektrophoreseplatten für 6 - 10 Stunden in 2 %ige Essigsäure. Trocknen der Platten unter Filtrierpapier bei 37°C im Brutschrank. Danach kann gefärbt werden.

15 Minuten in Lösung I

15 Minuten unter fließendem Leitungswasser waschen

10 Minuten in Lösung II

10 Minuten unter fließendem Leitungswasser waschen

3 Minuten in Lösung III (Schiff'sches Reagens + Aqua dest.)

3 x 2 Minuten in Lösung IV unter Wechseln der Lösung

3 x 1 Stunde in Lösung V unter Wechseln der Lösung

Trocknen der Platten bei 37°C ohne Filtrierpapier

Lipoproteidfärbung mit Sudanschwarz B (3, 11, 25)

Herstellung einer 0,5 - 1%igen Sudanschwarzlösung in 60 %igem Äthanol. Dazu mischt man 120 ml 96 %igen Alkohol mit 80 ml Aqua dest. in einem normalen Kolben und fügt 2 g Sudanschwarz B hinzu. Mehrmals filtrieren und im Wasserbad erhitzen. Die Agarplatten werden aus dem Elektrophoresekasten in diese Lösung 30 Minuten gelegt. Die anschließende Entfärbung geschieht in 50 %igem Äthanol (100 ml 96 % Äthylalkohol mit 100 ml Aqua dest.) dreimal fünfzehn Minuten unter Wechseln der Entfärberflüssigkeit. Das dritte Mal mengt man einige Tropfen Glycerin unter die Lösung.

Alizarin-S-Blau Färbung (11, 25)

Zu dieser Methode müssen die Agarplatten genauso vorbereitet werden wie zur Kohlehydratfärbung.

Lösung I: 400 mg Alizarin-Blau mit 200 ml Eisessig im Wasserbad auf genau 55°C erhitzen. Abkühlen lassen und filtrieren.

Lösung II: Vor Verwendung der Lösung einen Teil der Lösung I mit neun Teilen 70 %iger Essigsäure (70 ml Essigsäure ad 100 ml Aqua dest.)

50 ml von Lösung I

450 ml von Lösung II (350 ml Essigsäure + 150 ml Aqua dest.)

damit werden die Platten in einer Cuvette übergossen und

30 Minuten zur Färbung belassen. Anschliessend in 70 %igem

Alkohol (70 ml Äthylalkohol ad 100 ml Aqua dest.) 30 Minuten

auswaschen.

Nachweis esteraseaktiver Fermente (3, 11)

mit Indoxylacetat

50 mg Indoxylacetat (β -Acetoxy-indol) werden in 5 ml Aceton gelöst. Hinzu kommen 220 ml Na-Veronalpuffer $\text{ph} = 8,2$, $\mu = 0,05$ und 25 ml Cu (II) acetatlösung.

Herstellung des Puffers:

23,6 g Veronal-Natrium

1500 ml Aqua dest.

320 ml $n/10$ HCL

$\text{ph} = 8,2$, $\mu = 0,05$

Die Elektrophoreseplatten werden in dieser Lösung im Brutschrank bei 37°C 4 Stunden inkubiert. Anschliessend müssen sie 1 Stunde in H_2O gewaschen werden. Trocknen unter Filtrierpapier bei 37°C . Das unter Fermentwirkung freigewordene Indoxyl oxydiert durch den atmosphärischen Sauerstoff zu Indigo und hinterlässt somit eine Blaufärbung.

mit β -Naphthylacetat.

50 mg β -Naphthylacetat (Essigsäure- - Naphthylester naphthol-frei zur Bestimmung von Esterasen) werden in 2,5 ml Aceton puriss. gelöst. Dazu gibt man 250 ml Phosphatpuffer und 100 ml Diazo-Blau-B. Schütteln, filtrieren und über die Agarplatten gießen. Die Lösung ist nicht haltbar.

Herstellung des Phosphatpuffers:

Von Merck Darmstadt Titrisolpuffer $\text{ph} = 7,00$ im Plastikkolben mittels eines Glasstabes durchstoßen. Anschließend insgesamt 500 ml Aqua dest. durchlaufen lassen, d.h. mit dem Puffer mischen.

In der Lösung bleiben die Platten 1 Stunde im Brutschrank bei 37°C . Danach 1 Stunde in 2 %iger Essigsäure unter Filtrierpapier im Brutschrank trocknen. Es entsteht eine Rotviolett-färbung der esteraseaktiven Fermente durch eine Reaktion des freigewordenen β -Naphthol mit einem Diazoniumsalz

Fermentnachweisreaktion der Lactat-Dehydrogenase (LDH) nach van der Helm (28).

Lösung I:

- a) 50 ml einer 1 M Natriumlactatlösung
15 ml Na-lactatlösung + 67,5 ml Aqua dest.
- b) 50 ml 0,1 M Kaliumcyanidlösung
325 mg KCN in 50 ml Aqua dest. lösen
- c) 125 ml Phosphatpuffer $\text{ph} = 7,4$ 0,5 M
- d) 125 ml Nitroblautetrazolin (1 mg/ml)
125 ml Nitro (Bt) + 125 ml Aqua dest.

Von diesen Lösungen mischt man von

- a) 50 ml, b) 50 ml, c) 125 ml, d) 125 ml
zusammen 350 ml = Lösung I.

Vor Beginn der Färbung werden 70 ml der Lösung I mit 12,5 ml des nun folgenden Gemisches vermengt.

- a) 100 mg DPN gelöst in 10 ml Aqua dest.
- b) 3 mg Phenazinmethosulfat (lichtempfindlich) in 3 ml Aqua dest. lösen. Davon mischt man 2,5 ml mit 10 ml der Lösung a zusammen 12,5 ml.

Die Präparate in einer Cuvette mit der Lösung übergießen. Mit einer Glasplatte bedecken und für 1 - 1 1/2 Stunden in den Brutschrank bei 37°C stellen. Zum Auspräzipitieren in eine frische Cuvette und mit 70 %igem Alkohol übergießen (140 ml 96 % Äthylalkohol ad 200 ml Aqua dest.) 10 ml Eiessig ad 200 ml dieser Lösung übergießen und über Nacht stehen lassen.

Nachweis der Peroxydase (3, 11, 25)

Im Wasserbad werden 2 g Benzidin mit 20 ml Eiessig bis 56°C erhitzt. Danach läßt man die Lösung abkühlen und füllt auf ad 100 ml Aqua dest.

Nach Zugabe von 6 Kohletabletten 15 Minuten stehen lassen, schütteln, filtrieren und einige Tropfen H_2O_2 hinzufügen. Die Agarplatten bleiben 30 Minuten in dieser Lösung. Sofort fotografieren, da nicht haltbar. Es entsteht im Bereich peroxydaseaktiver Fraktionen ($\alpha_2 - \beta_1$ Globulinbereich) eine tief dunkelblaue Färbung.

Nachweis der Oxydase (Coeruloplasminnachweis) (11, 21, 26)

Die Agarplatten mit den getrennten Proteinfractionen werden 2 Stunden lang in bedeckten Cuvetten bei 37°C im Brutschrank in der folgend angegebenen Lösung belassen.

Lösung I:

21,6 mg p-Phenylendiamin werden in 100 ml eines Na-acetat-puffers $ph = 5,7, \mu = 0,1$ gelöst und mit 10 ml einer 0,065 %igen Natriumacidlösung versetzt und das Ganze auf 37°C erhitzt.

Herstellung der Natriumacidlösung:

0,650 g Natriumacid ad 1000 ml Aqua dest..

Herstellung des Natriumacetatpuffers:

$ph = 5,7, \mu = 0,1$.

a) 12 ml Eiessig ad 1000 ml Aqua dest.

b) 27,2 g Na-acetat + 3 H_2O ad 1000 ml Aqua dest.

von a) 95,0 ml, von b) 1000 ml.

Dieser Puffer ist eine zeitlang haltbar.

Wichtig ist, daß das eigentliche Reagens, die p-Phenylendiaminlösung jeweils unmittelbar vor Gebrauch bereitet werden muß.

Jetzt werden die Agarplatten 2 mal nacheinander je 2 Stunden lang in einem Natriumacetatpuffer $\text{ph} = 4,7$, $\mu = 0,1$ (Lösung II) ausgewaschen und anschließend bei 37°C getrocknet-

Lösung II:

- a) 12 ml Eisessig ad 1000 ml 50 %igen Äthylalkohol
- b) 27,2 g Natriumacetat + 3 H_2O ad 1000 ml 50 %igen Äthylalkohol

Von der Essigsäurelösung unter a) werden 455,0 ml mit der unter b) angegebenen Na-acetatlösung ad 1000 ml aufgefüllt. Gut verschlossen ist dieser Puffer haltbar.

Lösung III:

Will man die fertigen Elektrophoresestreifen von der Glasplatte abziehen und die übrigen Serumfraktionen auspräzipitieren, so muß man weiter wie folgt vorgehen:

Die Platten kommen in ein Bad mit einer 2%igen Essigsäurelösung versetzt mit Glycerin und werden wiederum getrocknet.

(20,0 ml Eisessig + 150,0 ml Glycerin ad 1000 ml Aqua dest. bei Zimmertemperatur gut mischen)

Die gefärbten Fraktionen können fotometrisch ausgewertet werden. Die Farbintensität (Braunfärbung) bzw. das Ausmaß der gewonnenen Gradientenkurve entspricht dabei der Coeruloplasminkonzentration (quantitativer Nachweis)

Nachweis der Amylase. (9, 19)

Es wird eine 3%ige Stärkelösung durch Erhitzen (fast bis zum kochen) in einer 1 %igen Natriumchloridlösung hergestellt. (1 g NaCl ad 100 ml Aqua dest., dazu 3 g Stärke p.A. im Wasserbad erhitzen) Diese wird mit Michaelispuffer $\text{ph} = 8,6$, $\mu = 0,05$ gemischt, wobei 30 ml der Stärkelösung ad 100 ml Puffer aufgefüllt werden. In bedeckter Cuvette bleiben die Agarplatten 30 Minuten in dieser Lösung im Brutschrank bei 37°C . Danach wird die Lösung verworfen, die Platten mit 20%iger Sulfosalicylsäure überschichtet und 10 Minuten lang unter leichtem Schwenken in dieser Lösung gehalten. (40 g Sulfosalicylsäure ad 200 ml Aqua dest.) Die Objekte kommen nun in eine Jodlösung bis die

Agarschicht gleichmäßig violettblau ist. (10 ml der 2%igen alkoholischen Tinct. jodii ad 200 ml Aqua dest.) Sofort fotografisch festhalten, da unbeständig. An den Stellen des Stärkeabbaues durch Amylase bleiben weiße bis rötliche Aussparungen. Sie erscheinen im Serum, Harn, Speichel und den meisten menschlichen Organextrakten im Bereich der β_2 -Globuline.

Nachweis der alkalischen Phosphatase. (23)

Reagens I = alkalische Substrat-Pufferlösung

10,3 g Veronal-Natrium werden mit

6,5 ml n/10 Natronlauge und

0,304 g Na-Phenolphthaleindiphosphat auf

500 ml Aqua dest. aufgefüllt und mit

3,75 ml Chloroform zur Konservierung der Lösung versetzt.

Die Platten werden unmittelbar nach der Elektrophorese in eine feuchte Kammer gelegt und mit einer doppelten Lage Filterpapier bedeckt. Dieses wurde zuvor mit Reagens I gut getränkt. Die Elektrophoreseplatten müssen 4 Stunden in der feuchten Kammer bleiben.

Reagens II = Glykokollpuffer

a) 4,595 g Glykokoll p.A.

b) 5,85 g Natriumacetat p.A.

c) 3,585 g Natriumchlorid

d) 50 ml 1 n Natronlauge (karbonatfrei)

e) 20,0 g Natriumpyrophosphat

Die Substanzen a) bis einschließlich e) werden mit aufgekochtem Aqua dest. (ad 500 ml) aufgefüllt.

Die Platten aus der feuchten Kammer mit Reagens I kommen in eine neue Cuvette und werden mit Reagens II überschüttet. Nach 15 Minuten ist die Färbung abgeschlossen. Im Bereich der alkalischen Phosphataseaktivität tritt eine Rotfärbung auf.

II) Ergebnisse

1. Hammel

Mit Amidoschwarz 10 B ließen sich insgesamt bis zu 8 Fraktionen nachweisen. Regelmäßig reproduzierbar waren allerdings im allgemeinen nur 6. Auffällig waren eine dem Albumin vergleichbare stark gefärbte Fraktion, sowie ein breiter intensiv gefärbter Komplex im Bereich der β_2 - Fraktion. Im Übrigen fanden sich zwei dem α -Globulin vergleichbare Komponenten, unter welchen die α_2 Fraktion stärker in Erscheinung trat; außerdem eine schmal β_1 sowie eine weit kathodisch gewanderte Fraktion die wohl dem γ - Globulin zuzuwerten ist. In den Einzelanalysen, in welchen noch weitere Fraktionen differenzierbar waren, handelte es sich um eine Aufgliederung des Bereiches zwischen α_2 - und β_2 - Fraktion. Abb. 6 , Abb. 2

Mit Schiff'schem Reagens konnten im wesentlichen 3 Komponenten im anodischen Bereich nachgewiesen werden, welche der Gruppe der α -Globuline zuzuordnen waren.

Mit Sudanschwarz B ließen sich 3 Farbzonen nachweisen, eine weit im anodischen Bereich, die ihrerseits 3 Unterfraktionen erkennen ließ, eine zweite im α_2 - Bereich, die sich vor allem durch ihre scharfe Begrenzung und Intensität auszeichnet, die dritte als nur schwache Färbung an der Stelle der β_2 - Globuline Abb. 4

Bei Färbung mit Alizarin-S-Blau konnte lediglich eine äußerst schwach darstellbare, wenn auch scharf begrenzte Fraktion weit im anodischen Bereich nachgewiesen werden.

Die zum Nachweis esterasetiver Komponenten angewandten Ferment- und Farbreaktionen ergaben folgendes: mit Indoxylacetat zeigte sich lediglich eine schwache Blaufärbung an der Auftragestelle. Mit β -Naphthylacetat konnte eine intensiv gefärbte Fraktion weit anodisch mit schwacher Verziehung, noch vor derselben, weitere schmale im Bereich der α_1 - Globuline sowie eine Farb-

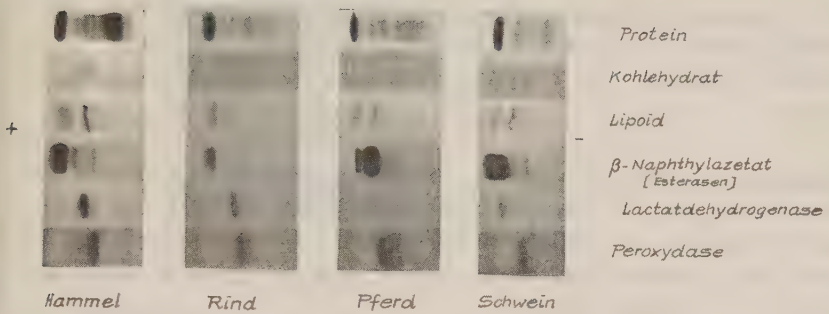


Abbildung 1

Charakterisierung der agarelektrophoretisch getrennten Seren von Hammel, Rind, Pferd und Schwein mit Hilfe verschiedener Farb- und Fermentnachweismethoden.

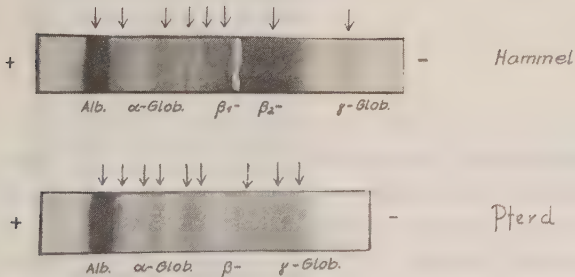


Abbildung 2

Proteinfärbung der agarelektrophoretisch getrennten Seren von Hammel und Pferd.

reaktion an der Auftragestelle nachgewiesen werden.

Darüberhinaus war zwischen der erwähnten α -Fraktion und dem Start eine schwache homogene Färbung zu beobachten. Abb. 6

Mit Nitroblautetrazolin (LDH-Aktivität) war lediglich eine sichere Fraktion und zwar im Bereich der α_2 Proteine nachweisbar, außerdem eine schwache Anfärbung der Auftragestelle.

Peroxydase mit Benzidin war nur an der Stelle der α_2 -Globuline nachweisbar, dort allerdings relativ intensiv gefärbt und als breiter Komplex. In einzelnen Analysen waren vor dieser Komponente noch 2 schwach gefärbte, jedoch scharf begrenzte oxydase-aktive Zonen faßbar. Abb. 7

Mit p-Phenylendiamin war eine äußerst schwache Braunfärbung unmittelbar vor der Auftragestelle in Richtung der Anode nachweisbar.

Die Amylasereaktion im Jodstärkeverfahren ergab keinen sicheren Anhalt für eine amylaseaktive Fraktion.

Die Alkalische Phosphatase zeigte nur an der Auftragestelle eine positive Reaktion unter Bildung einer schwachen Rotfärbung.

2. Rind

Mit Amidoschwarz 10 B ließen sich insgesamt 7, maximal 8 Fraktionen nachweisen. Unter ihnen imponierte eine intensiv gefärbte Fraktion mit größter elektrophoretischer Mobilität, eine Komponente im Bereich der α_2 -Globuline, sowie eine β_1 -Proteinkomponente, welche im Vergleich zur Erstgenannten zwar weit weniger intensiv in Erscheinung traten im Verhältnis zu den übrigen Fraktionen jedoch deutlich hervorkamen.

Mit Schiff'schem Reagens konnten 3, maximal 4 Farbzonen differenziert werden, die intensiv im anodischen Bereich auftraten. In nur zwei Analysen wurde auch eine schwache Färbung der β und γ -Globuline nachweisbar.

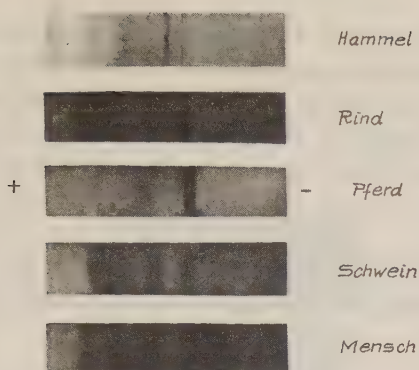


Abbildung 3

Kohlehydratfärbung der agarelektrophoretisch getrennten Seren von Hammel, Rind, Pferd, Schwein und Mensch.

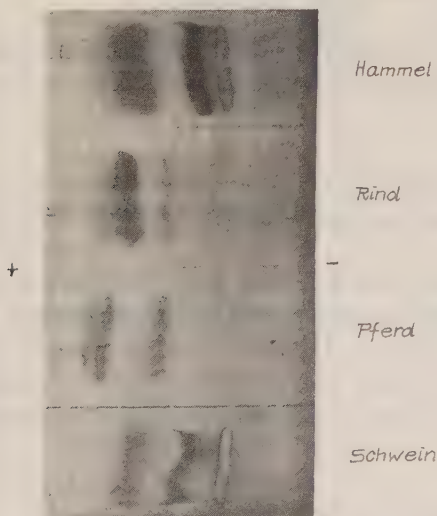


Abbildung 4

Lipoproteidfärbung der agarelektrophoretisch getrennten Seren von Hammel, Rind, Pferd und Schwein.

Mit Sudanschwarz B ließen sich 3 Farbkomplexe nachweisen, unter welchen eine den α_1 -Globulinen zuzuordnende Fraktion besonders hervortrat. Vor ihr lag eine Fraktion mit einer Geschwindigkeit der Albumine. Der dritte Komplex entsprach α_2 -Globulinen, er konnte in den meisten Fällen in zwei Subfraktionen getrennt werden. Abb. 4

Mit Alizarin-S-Blau konnte nur eine schwach gefärbte Zone, mit der Wanderungsgeschwindigkeit des Albumins aufgezeigt werden.

Mit Indoxylacetat, das zum Nachweis esteraseaktiver Komponenten Verwendung fand, wurden lediglich Farbspuren (schwache Blaufärbung) wiederum im Bereich der Albumine sowie an der Auftragestelle nachweisbar.

Mit β -Naphthylacetat ließen sich zwei Fraktionen weit anodisch darstellen, von welchen eine geringfügig kürzer wandernde Komponente durch ihre Intensität auffiel.

Die zum Nachweis LDH - aktiver Fraktionen angewandte Farbreaktion ergab eine deutlich hervortretende Zone an der Stelle der α_2 -Globuline.

Der Nachweis von Peroxydaseaktivität mit Benzidin gelang nur in einem Bereich unmittelbar anodisch vor der Auftragestelle.

Mit p-Phenylendiamin war eine Spur von Braunfärbung ebenfalls anodisch unmittelbar vor der Auftragestelle aufzuzeigen.

Amylaseaktivität konnte nicht sicher nachgewiesen werden, wenn man von einer rötlichen Aufhellungszone im anodisch gewanderten Bereich absieht.

Alkalische Phosphatase war nicht nachweisbar.

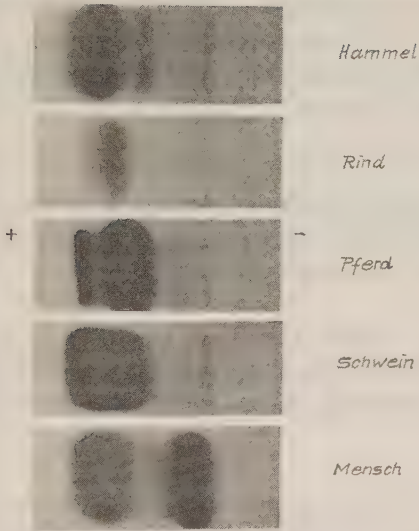


Abbildung 5

Nachweis esteraseaktiver Komponenten mit Hilfe des β -Naphthylacetats in den agarelektrophoretisch getrennten Seren von Hammel, Rind, Pferd, Schwein und Mensch.

3. Pferd Abb. 1

Mit Amidoschwarz 10 B zeigten sich 9 (10) differenzbierbare Fraktionen, unter ihnen 6 im anodischen Bereich, am meisten gewandert eine intensiv färbbare Fraktion, die den Albuminen gleichkommen dürfte. Kathodisch von der Auftragestelle ließen sich regelmäßig 3 Fraktionen abgrenzen, in zwei Analysen sogar eine vierte. Als Besonderheiten fallen neben dem Albumin zwei stärker gefärbte Fraktionen im α_2 -Bereich auf; außerdem eine relativ scharf begrenzte Fraktion im Bereich der β (β_2)- γ -Globuline. Abb. 2

Mit Schiff'schem Reagens wurden vier schwache Farbzonen nachweisbar, von welchen eine gekoppelte im Bereich der α_2 -Globuline relativ am meisten imponierte. Abb. 3

Mit Sudanschwarz B ließen sich zwei Komplexe im anodischen Bereich anfärben, von welchen der am weitesten anodisch gewanderte in zwei zusammenhängende Komponenten differenzierbar war.

Bei Färbung mit Alizarin-S-Blau konnte eine schwache Farb-reaktion im Bereich der Albumine bzw. der schnell wandernden α_1 -Globuline dargestellt werden.

Mit Indoxylacetat konnten zwei Komponenten weit anodisch vor der Auftragestelle nachgewiesen werden, von welchen die am weitesten gewanderte Fraktion scharf begrenzt und in ihrer Färbung weniger stark zur Darstellung kam, während die etwas kürzer gewanderte zweite Fraktion sich breiter darstellte. Eine schwache Farbzone zweigte sich schließlich in einzelnen Analysen auch unmittelbar vor der Auftragestelle.

Mit β -Naphthylacetat ließen sich ebenfalls zwei deutlich färbbare Komponenten im weit anodischen Bezirk nachweisen; darüberhinaus stellte sich eine weit schwächere Farbzone anodisch vor der Auftragestelle, welche ihrerseits in zwei nah aneinanderliegenden Fraktionen differenzierbar war, dar. Am intensivsten gefärbt

erschien unter den zuerst genannten Komponenten die weniger schnell gewanderte.

LDH-Aktivität zeigte sich aufgrund der Farbreaktion in zwei umschriebenen Zonen der α -Region, wovon eine Komponente, wahrscheinlich die LDH I, relativ stärker hervortrat.

Peroxydaseaktivität zeigte sich kräftig an einer Stelle, die dem Gebiet der α_2 -Globuline entsprach.

Oxydaseaktivität war nicht sicher nachzuweisen.

Eine Amylaseaktive Zone konnte im vorliegenden Serum nicht nachgewiesen werden. Es zeigte sich allenfalls anodisch eine Zone mit schwacher Rotviolettfröbung.

Alkalische Phosphatase konnte mit der hier verwandten Farbreaktion nicht dargestellt werden.

4. Schwein

Mit Amidoschwarz 10 B ergaben sich regelmäßig 5, unter optimalen Bedingungen bis zu 8 Fraktionen, wovon 3, besser 5 anodisch von der Auftragestelle und die restlichen in Richtung der Kathode verteilt waren. Eine Komponente entsprach der Wanderungsgeschwindigkeit vom Albumin, sie trat besonders kräftig hervor. Es imponierten aber auch wenigstens zwei Fraktionen im α -Bereich. Die am weitesten kathodisch gewanderte Fraktion erschien als breiter Komplex, der am ehesten dem γ -Globulin vergleichbar ist.

Mit Glykoproteidfärbung ließen sich zwei, allenfalls drei Komponenten anodisch nachweisen. Eine schwache Färbung zeigte sich aber auch im β_2 - γ -Globulinbereich. Abb. 3

Mit Sudanschwarz B ließen sich drei Farbzonen abgrenzen, wovon die erste im Präalbuminbereich nur schwach, die zweite in der Zone der Albumine besser α_1 -Globuline wesentlich stärker und breiter, die dritte im Bereich vom α_2 -Globulin am intensivsten zur Darstellung gelangten.

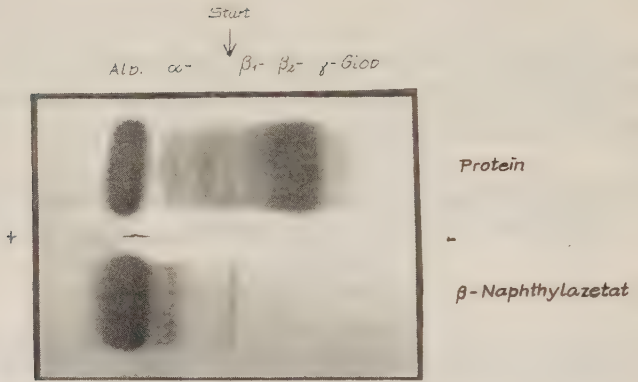


Abbildung 6

Gegenüberstellung der Proteinfärbung und der Reaktion mit β -Naphthylacetat zum lokalisatorischen Nachweis esteraseaktiver Komponenten im Hammelserum.

Mit Alizarin-S-Blau konnte nur eine äußerst schwache Reaktion im Bereich der Albuminfraktion erfaßt werden.

Der Nachweis mit Indoxylacetat fiel extrem schwach aus. Es ergaben sich andeutungsweise zwei Komponenten weit anodisch.

Mit β -Naphthylacetat dagegen war ein gedoppelter Komplex im Bereich der Präalbumin-Albuminfraktion mit intensiver Rotfärbung faßbar. Darüberhinaus konnten außer der Auftragestelle anodisch noch zwei weitaus schwächere Fraktionen differenziert werden. Abb. 5

LDH-Aktivität war nur in einer Zone mit etwa der elektrophoretischen Mobilität vom Albumin bzw. schnell wanderndem α_1 -Globulin nachweisbar.

Peroxydaseaktivität war im α_2 -Bereich als scharf umrissene Stelle nachweisbar.

Oxydaseaktivität zeigte sich anodisch vor dem Start, d. h. in der Zone der α_2 -Globuline als relativ deutliche Farbreaktion.

Eine Amylaseaktivität konnte einwandfrei im Bereich der γ -Globuline nachgewiesen werden.

Alkalische Phosphatase war hingegen nicht faßbar.

5. Mensch

Mit Amidoschwarz 10 B kamen die bekannten 5 Fraktionen deutlich heraus. Unter ihnen das Albumin verhältnismäßig stark angefärbt, und als weiteres Charakteristikum die γ -Globulinfraktion als breiter verlaufende Bande im Gegensatz zu den übrigen 4 relativ schmal gezeichneten Farblinien.

Die Kohlehydratfärbung erstreckte sich deutlich über 4 dieser 5 Komponenten. Der Albuminbereich war scharf ausgespart.

Mit Sudanschwarz B konnten zwei gut gefärbte Komplexe abgegrenzt werden, einer weit anodisch, der andere unmittelbar vor der Auftragestelle, der seinerseits in zwei Fraktionen aufspaltbar war. Darüberhinaus konnten 3 weitere Farbzonen in allerdings äußerst schwacher Reaktion wahrgenommen werden.

Mit Alizarin-S-Blau wurde im Bereich der Albumine bzw. α_1 -Globulinfraktion eine relativ deutliche Färbung sichtbar, ebenso an der Auftragestelle.

Mit Indoxylacetat konnte Esteraseaktivität nur in einem Bereich unmittelbar vor der Auftragestelle sichtbar gemacht werden, während mit

β -Naphthylacetat vier Fraktionen zu differenzieren waren, von welchen ein Komplex mit zwei Komponenten im Präalbumin/Albuminbereich, ein weiterer im α_2 -Bereich und der vierte unmittelbar anodisch vor der Auftragestelle sich darstellten.

Die LDH-Aktivität konnte aufgrund der Farbreaktion mit Nitroblau-tetrazolin in fünf Fraktionen nachgewiesen werden. Im vorliegenden Beispiel waren die Fraktionen I und II relativ am stärksten vertreten.

Peroxydaseaktivität zeigte sich ausschließlich im Bereich der α_2 -Fraktion, zunächst als starke Blau- später als Braunfärbung.

Oxydaseaktivität war ebenfalls nur im α_2 -Bereich nachweisbar als schwache Braunfärbung.

Amylase war bei menschlichem Serum im Bereich der β_2 - γ -Globuline als einzelne Stärkeabbauzone sichtbar.

Alkalische Phosphatase konnte lediglich an der Auftragestelle und als geringe Farbreaktion im Bereich der α_2 -Globuline nachgewiesen werden.

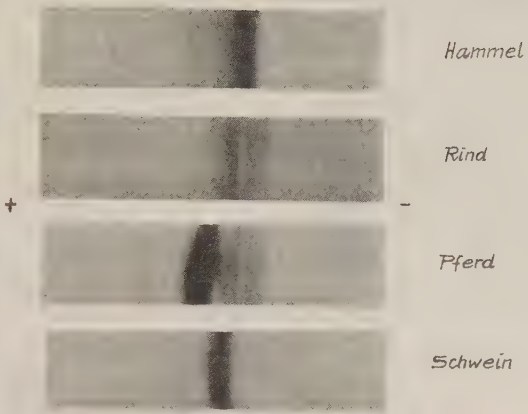


Abbildung 7

Peroxydasereaktion in den agarelektrophoretisch getrennten Seren von Hammel, Rind, Pferd und Schwein.

III) Diskussion

Wie aus den vorliegenden Untersuchungsergebnissen ersichtlich, hat es den Anschein, daß die Serumeiweißkörper verschiedener Tierspezies, sowohl im Vergleich zum menschlichen Serum, als auch bei Vergleich der verschiedenen Tierseren untereinander, speziesgebundene Charakteristika aufweisen. Diese bestehen nicht nur in Relationsunterschieden, etwa der vom menschlichen Serum her bekannten fünf Proteinfractionen, sondern auch in qualitativen Verschiedenheiten. Dies drückt sich bereits darin aus, daß sich schon bei Färbung mit Amidoschwarz 10 B eine unterschiedliche Anzahl von Serumeiweißkomponenten darstellen läßt und unabhängig davon deutlich faßbare Differenzen in der Länge der Trennstrecke der zu vergleichenden Seren offensichtlich wird. Außerdem läßt sich nachweisen, daß bei Anwendung zusätzlicher Farb- und Fermentreaktion weitere Unterschiede in den einzelnen Serumproteinfraktionen der einzelnen Spezies bestehen. Eine Vergleichsmöglichkeit der hier vorliegenden agarerelektrophoretischen und färberischen Ergebnisse mit Angaben der einschlägigen Literatur besteht nur insofern, als grundsätzliche Angaben über Zahl und Relation elektrophoretisch getrennter Tierseren möglich wird; es ist allerdings zu bedenken, daß die meisten zugänglich gewordenen Arbeiten mit anderer Elektrophoresetechnik so z.B. mit der Elektrophorese im freien Medium oder mit der Papiermethode (sowie im Stärkegel) über Ergebnisse berichten. Berücksichtigt man diese Befunde, so ergibt sich für die Proteinfärbung der getrennten Serumfraktionen für die Tiere Hammel, Rind, Pferd und Schwein eine nur annähernde Übereinstimmung mit den Daten von Moore (14) sowie Augustinsson (1, 14) des zugängigen Schrifttums. Während in den vorliegenden Analysen für das Hammelserum 6 - 8 Fraktionen abzugrenzen waren, gaben Augustinsson (1) sowie Deutsch und Mitarbeiter (4) nur 5 Komponenten an. Für das Rinderserum ergaben die vorliegenden Analysen 7 - 8 Fraktionen während auch hier Augustinsson (1) von 5 Fraktionen und auch H. E. Schultze und Mitarbeiter (24) 5 Komponenten, allerdings jeweils mit anderer Methodik (Säulenelektrophorese bzw. Elektrophorese im freien Medium) spricht. Die Differenzierung

der Serumproteine vom Pferd ergab mit Amidoschwarz 10 B 9 - 10 Komponente. Augustinsson (1) gibt 5 - 6 Fraktionen an, Deutsch und Mitarbeiter (4) 6 (für Plasma), Schultze und Mitarbeiter (24) 6 - 8 Proteine, wobei diese Autoren eine Albuminvorfraktion, eine Doppelung der β und eine Doppelung der γ -Globuline beschreiben bzw. andeuten. Im Schweineserum konnten in vorliegenden Studien 5 - 8 Fraktionen sichtbar gemacht werden. In der Literatur werden demgegenüber 4 - 6 Proteinfaktionen angegeben (1, 4, 14). Glykoproteide fanden sich in den hier untersuchten Tierseren vorwiegend im α -Globulinbereich. Die Zahl der anfärbbaren Komponenten war zu unterschiedlich, es fiel aber auf, daß vorwiegend die α_2 -Globulinfraktion, die übrigens auch im menschlichem Serum relativ am stärksten angereichert war, sich reichlich produzierte. Der Lipoproteidgehalt erwies sich in den Tierseren als auffallend stark. Im wesentlichen zeichneten sich 2 Komplexe ab, einer im Albumin α_1 -Bereich, der andere in der Zone der α -Globuline. Die Intensität der verschiedenen Komplexe war oftmals umgekehrt proportional, wie dies vor allen Dingen beim Rind im Vergleich zum Schwein oder im Vergleich zum Hammel besonders auffiel. Das Rinderserum zeigte nämlich eine starke Farbintensität des α_1 -Komplexes, während beim Schwein und Hammel im übrigen auch beim Pferd vor allem die Komponente im α -Globulinbereich stärker gefärbt war. Die Färbung mit Alizarin-S-Blau wies darauf hin, daß offenbar nur kleine Mengen proteingebundenes Kupfer in den Seren der hier gewählten Tiere vorhanden war. Bei der Untersuchung auf Esteraseaktivität fiel allgemein auf, daß die mit Indoxylacetat behandelten Seren nur schwache und wenig ergiebige Befunde zeigten, d.h., daß im allgemeinen nur 1 - 2 Farbzonen darstellbar wurden, während mit β -Naphthylacetat verhältnismäßig eindrucksvolle Bilder entstanden. Die Fermentaktivität scheint übereinstimmend an die Globuline des Albumin- α_1 -Bereiches gebunden zu sein. Im Vergleich zum menschlichen Serum unterscheiden sie sich darin, daß sie vor allem eine Fraktion in der unmittelbaren Nähe, d.h. gering anodisch entfernt von der Auftragsstelle vermissen lassen. Lediglich das Schwein zeigt in diesem

Bereich eine zusätzliche, wenn auch schwache Färbung. Der in den Tierseren nachgewiesene weit anodisch gelegene fermentative Komplex ließ in allen Fällen mindestens 2 trennbare Komponenten erkennen, wovon die eine in etwa an der Stelle schnell wandernder α_1 -Globuline, die andere im Bereich der Albuminvorfraktion zu liegen kommt. Die Relation zueinander ist offenbar in Abhängigkeit von der Tierspezies unterschiedlich. Während beim Hammel wahrscheinlich die Fraktion II (d.h. die kürzer anodisch gewanderte) sehr viel geringer ausgeprägt ist als die esteraseaktive Komponente I (d.h. die im Präalbuminbereich gelegene Fraktion) findet sich beim Pferd ein genau umgekehrtes Verhältnis und beim Schwein finden sich die Fraktionen I und II gemessen an der Farbtintensität in nahezu gleicher Konzentration. Das Rind hingegen offenbart eine weit weniger intensive Färbung und einen Relationstyp wie das Pferd. Augustinsson (1), der bei den entsprechenden Tierarten - wenn auch mit anderer Methodik - vorwiegend im anodischen Bereich Aryl- und Aliesterasen, im Bereich der α_2 -Globuline Cholinesteraseaktivität nachweisen konnte. Demzufolge kann bei Vergleich mit den hier vorliegenden agar-elektrophoretischen Befunden der Schluß gezogen werden, daß mit Indoxylacetat ausschließlich die Cholinesterase, mit β -Naphthylacetat jedoch vorwiegend Aryl- und Aliesterase erfaßt werden können. Die Ergebnisse der LDH sind insofern von Bedeutung, als zunächst auffällt, in praktisch allen untersuchten Seren, daß lediglich eine Komponente anfärbbar war, diese lag gemessen an ihrer elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit zwar jeweils im anodischen Bereich, jedoch an unterschiedlicher Stelle, d. h. bei Hammel und Rind im Bereich der α_2 -Globuline, im Pferdeserum an der Stelle der α_1 -Globuline und beim Schwein ebenfalls im Bereich noch schneller wandernder α_1 -Globuline. Die peroxydaseaktiven Fraktionen zeigten sich in den verschiedenen Tierseren, in den meisten Fällen vorwiegend im α_2 -Bereich, d.h. unmittelbar anodisch vor der Auftragestelle. Lediglich beim Pferd schien eine Verlagerung der Farbzone in Richtung der Anode, d.h. in dem α_1 -Bereich erfolgt zu sein,

außerdem fiel ein Phänomen im Hammelserum auf, bei welchem vor der Hauptfraktion ein gedoppelter schwach gefärbter Komplex nachweisbar wurde. Von den übrigen Fermenten wie der Oxydase, Amylase und alkalischen Phosphatase waren die Ergebnisse wenig ergiebig. Das kann daran liegen, daß die untersuchten Tierseren arm sind an diesen Enzymen und daß, wie dies im übrigen auch für das menschliche Serum gilt, die Konzentration und Menge des auf die Objektträger aufgetragenen Serums nicht ausreichen für den Nachweis. Es empfiehlt sich in solchen Fällen die Makro-Methode nach Grabar und Williams (10, 12) anzuwenden. Es besteht aber auch die Möglichkeit, daß tatsächlich in den Tieren derartige Fermente nicht vorliegen. Bei Prüfung auf Amylase fiel lediglich im Serum des Schweines eine umschriebene Stärkeabbauzone im Bereich der γ -Globuline auf, die zu dem Schluß berechtigt, daß bei dieser Spezies eine relativ starke Amylaseaktivität vorhanden ist.

Die bisherigen immunoelektrophoretischen Befunde, die nur zur groben Orientierung der Subfraktionen der verschiedenen Tierseren vorgenommen wurden, hat mehr noch als die einfache Elektrophorese Kriterien zu Tage gefördert, die offenbar spezies-spezifisch sind. Abb. 8

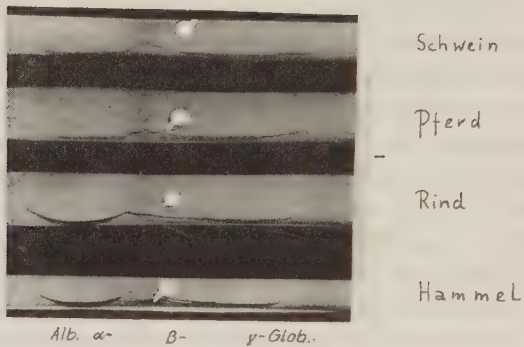


Abbildung 8

Immunelektrophoresen verschiedener Tierseren
unter Verwendung spezifischer Antiseren
(Behringwerke Marburg-Lahn).

C) Zusammenfassung

In vorliegender Arbeit wurden die Serumeiweißkörper von Hammel, Rind, Pferd und Schwein im Vergleich zu einem Humanserum agarelektrophoretisch getrennt und zur Charakterisierung der einzelnen Fraktionen mit verschiedenen Farb- und Fermentnachweisreaktionen weiter analysiert. Erfasst wurden die Proteine, Glykoproteide, Lipoproteide, kupfertragende Fraktionen, esterase-, lactate-dehydrogenase-, peroxydase-, oxydase-, amylase- und alkalische Phosphatase-aktive Komponenten.

Dabei ergab sich, daß die Serumeiweißkörper verschiedener Tierespezies, sowohl im Vergleich zum menschlichen Serum, als auch bei Vergleich der verschiedenen Tierseren untereinander, speziesgebundene Charakteristika aufweisen. An Fermenten waren vor allem Esterasen deutlich nachweisbar, jedoch zeigten auch sie, vor allem in ihrem quantitativen Verhalten, von Tier zu Tier, deutliche Unterschiede. LDH-Aktivität war in den meisten Fällen nur in Gestalt einer oder allenfalls zweier Komponenten nachweisbar. Gemessen an ihrer elektrophoretischen Beweglichkeit verhielten auch sie sich von Spezies zu Spezies unterschiedlich. Andere Fermente wie die Oxydase, Amylase und alkalische Phosphatase waren in den verschiedenen Tierseren nicht oder derartig gering vertreten, daß sie mit den hier angewandten Methoden nicht nachweisbar waren. Lediglich im Serum des Schweines konnte eine umschriebene Amylaseaktivität im γ -Globulinbereich dargestellt werden. Im Vergleich zu einem Menschen Serum können mit den verschiedenen Tierseren insofern Parallelen gezogen werden, als die wesentlichsten Proteineigenschaften, etwa die Glykoproteid- oder Lipoproteidnatur oder Enzymeigenschaften den gleichen elektrophoretisch definierbaren Bereichen zugeordnet werden konnten. Tiefgreifende Unterschiede ergeben sich allerdings in der Relation der Serumproteine verschiedener Tiere und des Humanserums, d.h. in ihrem quantitativen Verhalten. Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse sollen mit Ausgangspunkt sein, für die tierexperimentelle Serumeiweißforschung.

Literatur

- (1) AUGUSTINSSON, K.B.:
 - a) Studies on blood plasma esterases.
Acta Chem. Scand. 13, 571 - 592, 1081 - 1096,
1097 - 1105 (1959)
 - b) The LKB 3340 column electrophoresis apparatus used
in studies on blood plasma esterases.
Science Tools 10, 57 - 58 (1963)

- (2) BERG, G., K.H. KIMBEL und F. SCHEIFFARTH:
Zur Schwankungsbreite der Serumeiweißfraktionen normaler
Versuchsratten.
Naturwiss. 42, 51 (1955)

- (3) BERG, G., F. SCHEIFFARTH, H. SCHÖN† und H. GÖTZ:
in: N. HENNING: Klinische Laboratoriumsdiagnostik, Urban
und Schwarzenberg, München und Berlin 1960, 2. Aufl.

- (4) DEUTSCH, H.F. und M.B. GOODLOE:
An electrophoretic survey of various animal plasma.
J. Biol. Chem. (Am.) 161, 1 (1945)

- (5) DIMOPOULLOS, G.T., G.T. SCHRADER und B. FLETSCHER:
Electrophoretic studies of bovine serum. IV. Differences
in serum glycoproteins due to age and sex.
Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 102, 704 - 707 (1959)

- (6) EDSALL, J.T.:
The plasma proteins and their fractionation.
Adv. Protein Chem. (Am.) 3, 383 (1947)

- (7) FISCHER, R. und F. WULEN:
Die Dysproteinämie im Experiment. Vergleichende Unter-
suchungen beim Meerschweinchen, Kaninchen und der Ratte.
Z. exper. Med. 130, 538 - 546 (1959)

- (8) GÖTZ, H., G. BERG und F. SCHEIFFARTH:
Methodische Grundlagen der Immunoелеktrophorese.
Z. Immun.-forsch. 114, 72 - 84 (1957)
- (9) GÖTZ, H., F. SCHEIFFARTH und D. HOFFMANN:
Diastasenachweis in einigen menschlichen Organextrakten
mit Hilfe der Elektrophorese im Agargel.
Z. Gastroenterologie 2, 76 - 78 (1964)
- (10) GRABAR, P.:
Etudes sur les protéines à l' aide de méthodes immunochi-
miques.
Bull. Soc. Chim. Biol. 36, 65 (1954)
- (11) GRABAR, P. und P. BURTIN:
a) Analyse Immunoélectrophorétique.
Masson und Cie., Paris 1960
b) Immunoелеktrophoretische Analyse.
Esevier Publ. Comp. (Amsterdam-London-New York) 1964
- (12) GRABAR, P. und C.A. WILLIAMS:
Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés
électrophorétiques et immunochimiques d'un mélange de
protéines; application au sérum sanguin.
Biochim. Biophys. Acta 10, 193 (1953)
- (13) HUDGINS, P.C. und R.A. PATNODE:
Electrophoretic distribution of serum protein and glyco-
protein in the tuberculous rat, rabbit and guinea pig.
Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 95, 181 - 183 (1957)
- (14) MOORE, D.H.:
Species differences in serum protein patterns.
J. Biol. Chem. (Am.) 161, 21 (1945)
- (15) PETZOLD, F.A.:
Lipide und Lipoproteide im Blutplasma.
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1961, S.156

- (16) ROHATGI, K. und S. BANERJEE:
Serum lipoproteins and glycoproteins in aminopterin treated rats.
Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 102, 761 - 763 (1959)
- (17) SCHEIDEGGER, J.J.:
Une microméthode de l'immuno-électrophorèse.
Int. Arch. Allergy 7, 103 (1955)
- (18) SCHEIFFARTH, F. und G. BERG:
Serumeiweißbestimmungen bei Ratten und Kaninchen mit der Papierelektrophorese. I. Mitt. Die Normalwerte bei Ratten und Kaninchen.
Z. exper. Med. 119, 550 (1952)
- (19) SCHEIFFARTH, F. und H. GÖTZ:
Eine Methode zum Diastasenachweis agarelektrophoretisch getrennter Proteingemische.
Klin. Wschr. 1964, 130 - 131
- (20) SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und J. ANDRACK:
Papier- und agarelektrophoretische Studien über die Serumprotein-Konstellation beim Meerschweinchen.
Z. Naturforsch. 18 b, 543 - 551 (1963)
- (21) SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und F. CZAGANY:
Zur quantitativen Bestimmung der Coeruloplasminkonzentration im Serum.
Med. Welt 1961, 1449.
- (22) SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und O. KNELLER:
Weitere statistische Untersuchungen der Serumeiweißverhältnisse unbehandelter Albinoratten.
Naturwiss. 44, 639 (1957)
- (23) SCHEIFFARTH, F., H. WARNATZ und H. GÖTZ:
Zum qualitativen und quantitativen Nachweis der alkalischen Phosphatase im Serum mit Hilfe der Agarelektrophorese.
Med. Welt 1961, 2216 - 2220

- (24) SCHULTZE, H.E., M. SCHÖNENBERGER und H.D. MATHEKA:
Zur Kenntnis der Gammaglobuline und antitoxischen
Immunglobuline.
Behringwerk - Mitteilungen 26, 21 - 57 (1952)
- (25) SCHWICK, G. und K. STÖRIKO:
Immunoелеktrophorese
Laboratoriumsblätter, Behringwerke Marburg-Lahn
Mai, 61 - 64 (1964)
- (26) URIEL, J.:
Étude de l'activité enzymatique de la céruloplasmine
du sérum humain après électrophorèse et immuno-électro-
phorèse en gélose.
Bull. Soc. Chim. Biol. 39, Suppl. I, 105 (1957)
- (27) URIEL, J. und J.J. SCHEIDEGGER:
Électrophorèse en gélose et coloration des constituants.
Bull. Soc. Chim. Biol. (Paris) 37, 165 (1955)
- (28) VAN DER HELM, H.J.:
A simplified method of demonstrating lactic dehydrogenase
isoenzymes in serum.
Clin. Chim. Acta 7, 124 (1962)
- (29) WILLIAMS, C.A. und P. GRABAR:
Immuno-electrophoretic studies on serum proteins. I. The
antigens of human serum.
J. Immunol. 74, 158 (1955)

Abschließend möchte ich mir erlauben, Herrn Prof. Dr. N. Henning für die Übernahme des Referates meinen ergebenden Dank zu sagen.

Herrn Prof. Dr. F. Scheiffarth möchte ich für die Themastellung und für die freundliche Beratung bei allen sich ergebenden Fragen, sowie vor allem Fräulein Dr. H. Götz für ihre wertvolle Anleitung und ihre lebenswürdige Hilfe bei dieser Arbeit meinen aufrichtigen Dank aussprechen.

Lebenslauf

Am 16. 12. 1926 wurde ich, Güldenfey Else Margarethe Potzel als Tochter des Zahnarztes Dr. med. dent. Walther Lange-Hermstädt und seiner Ehefrau Julia Lange-Hermstädt geb. Heckmann in Karlsruhe/Baden geboren.

Die Volksschule besuchte ich in Pforzheim, Neckar-gemünd und Heidelberg, die Oberschule in Schloß Wieblingen bei Heidelberg, Karlsruhe und Straßburg.

Im Januar 1936 verstarb mein Vater. 1942 wurden wir in Karlsruhe total fliegergeschädigt.

Bis zur Aufnahme meines Medizinstudiums im W/S. 1949/50 in Erlangen bauten wir uns eine neue Existenz auf.

Meine Studien betrieb ich in Erlangen und Heidelberg, wo ich im Februar 1957 das Staatsexamen ablegte.

Im gleichen Jahr heiratete ich den Arzt Johann Georg Potzel.

Nach mehrjähriger Tätigkeit an der Orthopädischen Klinik der Universität Heidelberg, im Städtischen Krankenhaus Nürnberg, an der Universitätsklinik Erlangen und der Orthopädischen Klinik in Landau erhielt ich im Jahre 1964 meine Anerkennung als Fachärztin für Orthopädie.

Für dieses Fachgebiet habe ich seit Juli 1965 in Mannheim die kassenärztliche Zulassung.

Fotodruck

Offset - Fotodruck

- W. Hög, Erlangen, Brüxer Straße 9, (Nähe Röthelheimbad) Telefon 15336 -